Iranian Journal of Animal Science Research
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

Research paper
Vol. 15, No. 2, Summer 2023, p. 241-254

The Effect of Adding *Lactobacillus* Isolates, Isolated from the Gastrointestinal Tract of Iranian Native Poultry on Performance, Carcass Characteristics, Blood Parameters and Safety Parameters of Broilers

Seyed Mohammad Entezari Sereshkeh[1], Majid Mottaghitalab[2*], Maryam Royan[3], Ramin Seighalani[4]

Received: 22-05-2022
Revised: 07-09-2022
Accepted: 02-10-2022
Available Online: 02-10-2022

How to cite this article:
Entezari Sereshkeh, S. M., Mottaghitalab, M., Royan, M., & Seighalani, R. (2023). The effect of adding *Lactobacillus* isolates, isolated from the gastrointestinal tract of Iranian native poultry on performance, carcass characteristics, blood parameters and safety parameters of broiler. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *15*(2), 241-254.
DOI: 10.22067/ijasr.2022.76829.1077

Introduction: Feed additives are commonly used in poultry feed to enhance performance, promote health, and increase nutrient efficiency. The use of antibiotics as growth promoters in poultry feed has been prevalent for years. However, due to concerns regarding the accumulation of antibiotic residues in poultry products and the development of antibiotic-resistant bacterial strains, antibiotics are no longer considered desirable additives in poultry feed. As a non-therapeutic alternative to antibiotics, probiotics have been introduced as suitable candidates to promote growth. Probiotics have beneficial effects on poultry digestive enzymes, improve intestinal absorption, and neutralize toxins produced by harmful microorganisms, ultimately improving the immune system and economic performance. Among the most popular probiotic bacteria are Lactobacilli, as they are generally classified as safe bacteria.

Materials and methods Lactobacillus reuteri (*L. reuteri* ABRIG25 (MF686485)) and salivarius (*L. salivarius* NABRII59 (MH595987) isolated from the digestive tract of Guilan's native chicks and Mazandaran's duck respectively, were prepared up to 1.36×10^9 CFU using MRS medium at 37 ° C, under anaerobic conditions. 300 one-day-old male Arbor-Acres chicks were distributed in a completely randomized design, with 5 treatments, 4 replications (15 chicks per replicate). Experimental treatments were: 1- Basic diet as control group (Cont), 2- Basic diet + 100 g / ton *Avilamycin* as antibiotic group (Anti), 3- Basic diet + 200 g / ton commercial probiotic (*Lacto-feed*®) (Plac), 4- Basic diet + 1 g / Kg of *L. salivarius* NABRII59 (MH595987) bacterial powder (Pls1), and 5- basic diet + 1 g / kg of *L. reuteri* ABRIG25 (MF686485) bacterial powder (Plr1). Daily feed intake, weight gain, and feed conversion ratio of broilers were determined and recorded in starter, grower, and finisher periods. On day 42, two chicks were slaughtered from each replicate and the weight of internal organs and carcass cuts were recorded as a percentage of carcass weight. Chicken antibody reaction were determined using SRBS suspension. On days 22 and 35 of the rearing period, two chicks were randomly selected from each cage and 0.1 cc of SRBC solution was injected into to the wing's vein, intravenously. Humoral immunity test was applied on days 29 and 42, using 1 cc of blood taken from the wing vein of chickens. The hemagglutination reaction was recorded based on the last two dilutions as SRBC's antibody using the logarithm and the antibody titer against Newcastle was determined by hem agglutination inhibition (HI) test. On day 42, blood samples were taken randomly from 2 birds per replication to evaluate blood-serum parameters including glucose, cholesterol, triglyceride, HDL, LDL and VLDL. All data were analyzed using SAS software v.9.1 (2012) in GLM procedure using a completely randomized design, and comparison of statistical means was performed, using Duncan's method at the level of 0.05.

1- M.Sc. Student, Department of Animal Science, Faculty of agriculture, University of Guilan, Rasht, Iran.
2- Professor, Department of Animal Science, Faculty of agriculture, University of Guilan, Rasht, Iran.
3 and 4- Assistant Professor and Researcher, North region branch, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran. (ABRII), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran, Respctively.
*Corresponding Author's Email: mmotaghi@guilan.ac.ir

Results and Discussion: The present study investigated the effect of native probiotic isolates (Plr1, Pls1) compared to commercial probiotics (Plac) and antibiotics (Anti) on the growth performance of chickens. The results showed no significant differences in daily feed intake, weight gain, and feed conversion ratio between experimental treatments. However, two native probiotic isolates (Plr1, Pls1), the commercial probiotic (Plac), and the antibiotic (Anti) resulted in a significant reduction ($P <0.05$) in proventriculus weight, while there were no significant differences in the relative weight of other organs. Both the commercial probiotic (Plac) and the native Lactobacillus isolates (Plr1 and Pls1) significantly improved total immunoglobulin and immunoglobulin G (IgG) levels after both the first and second injections ($P <0.05$). Lactobacillus salivarius (Pls1) isolate also significantly improved immunoglobulin M (IgM) levels after the second injection. However, there were no significant differences between treatments and the control group in terms of antibody titer against Newcastle disease vaccine, blood glucose, cholesterol, triglyceride, VLDL, and LDL levels. Probiotics can affect gut microbiota by competing for nutrients and attachment sites on the intestinal epithelial cells. Additionally, they may improve blood parameters and stimulate immune system cells to produce cytokines, which play an important role in inducing and regulating immune responses in poultry. Probiotics support lactic acid-producing bacteria and stabilize the gut microflora, which has beneficial effects on feed conversion ratio by stimulating the production of digestive enzymes. Furthermore, probiotics may reduce cholesterol synthesis by fermenting indigestible carbohydrates, leading to the production of short-chain fatty acids and ultimately lowering cholesterol levels in the host bird. Discrepancies in results reported by different researchers may partly be due to differences in chick's age and breed, level of stress, diet composition, consumption period and duration, type of commercial probiotics, dose or amount of probiotic intake, management skills, and environmental conditions in different experiments.

Conclusion: The general conclusion is that the probiotic isolates used in this study are competitive with the commercial type of probiotics as well as the antibiotic used and are promising as probiotic candidate with beneficial effects on broiler's performance, blood biochemical parameters and immune system

Keywords: Avilamycin , Lacto-feed probiotic, Lactobacillus reuteri, Lactobacillus salivarius, Guilan' native chick

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۱۵، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۲، ص. ۲۵۴-۲۴۱

اثر افزودن جدایه‌های *لاکتوباسیلوسی* جداسازی شده از دستگاه گوارش طیور بومی ایران بر عملکرد، خصوصیات لاشه، فراسنجه‌های خونی و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی

سید محمد انتظاری سرشکه[۱]، مجید متقی طلب[۲]*، مریم رویان[۳]، رامین صیقلانی[۴]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۰۱
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۷/۱۰

چکیده

در این مطالعه، اثرات استفاده از یک سویه *لاکتوبا سیلوس روتری* جدا سازی شده از دستگاه گوارش مرغ بومی گیلان و یک سویه *لاکتوبا سیلوس سالیواریوس* جداسازی شده از دستگاه گوارش اردک بومی مازندران بر عملکرد، خصوصیات لاشه، ایمنی و فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی بررسی شد. سیصد قطعه جوجه گوشتی نر *آربراکرز پلاس* در قالب طرح کاملاً تصادفی به پنج تیمار و چهار تکرار (۱۵ قطعه جوجه در هر تکرار) تقسیم شدند. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- جیره پایه به‌عنوان شاهد، ۲- جیره پایه + آنتی‌بیوتیک *آویلامایسین*، ۳- جیره پایه + پروبیوتیک تجاری *لاکتوفید*™، ۴- جیره پایه + جدایه بومی *لاکتوباسیلوس سالیواریوس* (*L. salivarius* NABRII59 (MH595987)) و ۵- جیره پایه + جدایه *لاکتوباسیلوس روتری* (*L. reuteri* ABRIG25 (MF686485)) بودند. از نظر میزان مصرف خوراک، افزایش وزن روزانه، و ضریب تبدیل خوراک تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد. جدایه‌های لاکتوباسیلوسی بومی، آنتی‌بیوتیک محرک رشد و پروبیوتیک تجاری *لاکتوفید* منجر به کاهش معنی‌دار وزن پیش‌معده شدند. هم‌چنین هر دو جدایه لاکتوبا سیلوس بومی و نیز پروبیوتیک تجاری *لاکتوفید* به صورت معنی‌داری باعث افزایش ایمنوگلوبولین کل و ایمنوگلوبولین G پس از دو مرحله تزریق *SRBC* (در روزهای ۲۲ و ۳۵) گردیدند. میزان عیار پادتن علیه واکسن *نیوکاسل* در هر دو نوبت خون‌گیری (روزهای ۲۹و ۴۲) تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. غلظت گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، VLDL[1] و LDL[2] سرم خون در پرندگان تیمارهای مختلف آزمایشی مشابه بود، امّا HDL[3] سرم در جوجه‌های تغذیه شده با آنتی‌بیوتیک کاهش یافت ($P<0.05$). به‌طور کلی، با توجه به اثرات مثبت و مشابه جدایه‌های *لاکتوباسیلوس* بومی با پروبیوتیک تجاری *لاکتوفید* و آنتی‌بیوتیک *آویلامایسین* بر عملکرد، فراسنجه‌های خونی و بهبود شاخص‌های ایمنی جوجه‌های گوشتی، این باکتری‌ها می‌توانند به‌عنوان مکمّل پروبیوتیکی در تغذیه طیور مورد استفاده قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: آویلامایسین، پروبیوتیک لاکتوفید، *لاکتوباسیلوس روتری*، *لاکتوباسیلوس سالیواریوس*، مرغ بومی

مقدمه

بسیاری از کشورها استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در تغذیه‌ی دام و طیور را به‌دلیل ابقای آن‌ها در تولیدات و ایجاد مقاومت‌های باکتریایی و مضرات آن در سلامت انسان به‌عنوان مصرف‌کننده نهایی، محدود یا ممنوع اعلام نموده‌اند (Taherpour *et al*., 2009). به‌همین دلیل،

1- Very Low-Density Lipoprotein
2- Low-Density Lipoprotein
3- High-Density Lipoprotein

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.
۲- استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.
۳ و ۴- به ترتیب استادیار و محقق، پژوهشکده بیو تکنو لوژی جانوری کشور، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران (ABRII)، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، رشت، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Email: mmotaghi@guilan.ac.ir)

DOI: 10.22067/ijasr.2022.76829.1077

در سال‌های اخیر از ترکیبات مختلفی به‌عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها در جیره طیور جهت بهبود کارایی هضم، جذب، استفاده از مواد مغذی و افزایش سوخت و ساز استفاده می‌شود. این ترکیبات شامل پروبیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک‌ها، سین‌بیوتیک‌ها، آنتی‌بیوتیک‌ها، آنزیم‌ها، طعم‌دهنده‌ها، آنتی‌اکسیدان‌ها، مواد ضد قارچ، داروهای ضد انگل، فیتوبیوتیک‌ها و غیره می‌باشند. از جمله مهم‌ترین ترکیبات جایگزین برای آنتی‌بیوتیک‌ها می‌توان به پروبیوتیک‌ها اشاره نمود. سازمان بهداشت جهانی (WHO) و سازمان غذا و کشاورزی ملل متحد (FAO)، پروبیوتیک ها را کشت های تک یا چند سویه، از ریز سازواره‌های زنده تعریف می‌کنند که در صورت استفاده به مقادیر مناسب، اثرات سودمندی بر میزبان خواهند داشت (Lillehoj *et al.*,2018). پروبیوتیک‌ها، مکمل‌های میکروبی زنده‌ای هستند که باعث بهبود تعادل میکروبی روده‌ای میزبان، جلوگیری از رشد و تکثیر میکروب‌های مضر در دستگاه گوارش و نیز بهبود بازدهی و ضریب تبدیل خوراک و نهایتاً افزایش رشد و تولید حیوان و کاهش ابتلا به بیماری‌ها می‌شوند (Fuller, 1989). سه سازوکار اصلی برای نحوه‌ی اثر پروبیوتیک‌ها شامل حذف رقابتی، اثرات ضد باکتریایی و تحریک سامانه ایمنی می باشد (Ohimain and Ofongo, 2012). پروبیوتیک ها با افزایش فعالیت آنزیم های گوارشی و خنثی کردن سموم تولید شده توسط سایر ریزسازواره‌ها، باعث بهبود عملکرد هضمی و افزایش سطح جذب روده و نیز ارتقای سلامت طیور می‌شوند (Kizerwetter-Swida and Binek, 2009). *لاکتوباسیلوس*‌ها در میان باکتری‌های پروبیوتیکی بسیار مورد توجه بوده، زیرا عموماً در گروه باکتری های ایمن قرار می‌گیرند (FDA, 2010). پروبیوتیک‌های لاکتوباسیلوسی قادرند از دو طریق سامانه ایمنی را تقویت و تحریک نمایند. این ریزسازواره‌ها یا به‌صورت یاخته‌های زنده در طول دیواره روده استقرار، تکثیر و توسعه پیدا می‌کنند، و یا اینکه با کمک پادگن‌های آزاد شده، ریز سازواره‌های غیر زنده را جذب، و مستقیماً سامانه ایمنی را تحریک می‌نمایند (Fuller, 2001). این تأثیر از طریق فعال‌سازی یاخته‌ها و پاسخ ایمنی با افزایش سازوکارهای دفاع درونی و تنظیم سامانه ایمنی مخاطی صورت می‌گیرد. ناکفایچیت و همکاران (Nakphaichit *et al.*, 2011)، گزارش نموده‌اند که استفاده از سویه‌های لاکتوباسیلوسی در خوراک، باعث بهبود وزن بدن در هفته اول و کاهش *پروتئوباکتر*ها مخصوصاً *کامپیلوباکتر* می‌شود.

نتایج مطالعات متعدد تأیید کننده بهبود ایمنی و اثرات مطلوب *لاکتوباسیلوس روتری* در مصرف‌کننده می‌باشد (Mu *et al.*, 2018). تیمرمن و همکاران (Timmerman *et al.*, 2006)، مشاهده نمودند که ارائه سه سویه *لاکتوباسیلوس روتری* در آب آشامیدنی طیور به مدت ۳۱ روز باعث کاهش مرگ و میر، بهبود سلامت و عملکرد، و افزایش ۸/۷ درصدی میزان تولید گردید. بر اساس گزارش شکریزدان و همکاران (Shokryazdan *et al.*, 2017)، استفاده از مخلوطی از سه سویه *لاکتوباسیلوس سالیواریوس* در خوراک مصرفی، علاوه بر بهبود وزن بدن، ضریب تبدیل خوراک و افزایش زنده‌مانی و کاهش کلسترول سرم، باعث افزایش معنی‌دار جمعیت باکتری‌های مفید سکومی شده، درحالی‌که از جمعیت باکتریایی نامطلوب به‌شدت می‌کاهد. ریتزی و همکاران (Ritzi *et al.*, 2014)، گزارش کردند که استفاده از پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس سالیواریوس* در خوراک موجب بهبود افزایش وزن بدن، بهبود رشد و همچنین کاهش اثرات منفی *ایمریا* بر عملکرد طیور می‌شود. اهمیت دیگر پروبیوتیک‌ها در کاهش تری‌گلیسیرید سرمی و سازوکارهای کاهش ساخت کلسترول یا افزایش تخریب و خروج آن از بدن میزبان است. گزارش شده که استفاده از پروبیوتیک باعث کاهش کلسترول خون جوجه‌های گوشتی می‌شود (Kalavathy *et al.*, 2003). برای توسعه ساخت پروبیوتیک‌ها، باید پس از جداسازی باکتری‌های پروبیوتیکی در شرایط آزمایشگاهی، کارایی آن‌ها در مزرعه نیز ارزیابی گردد. زیرا افزودن کشت‌های لاکتوباسیلوسی به جیره طیور نتایج متفاوتی را در پی داشته است که از جمله دلایل آن، نحوه مصرف و وجود تفاوت بین سویه‌های باکتریایی می‌باشد (Ashayerizadeh *et al.*, 2011; Awad *et al.*, 2006; Olnood *et al.*, 2015). در مطالعه حاضر، اثرات یک سویه بومی *لاکتوباسیلوس روتری* (*L. reuteri* ABRIG25 (MF686485)) جدا سازی شده از مرغ بومی گیلان و همچنین یک سویه بومی *لاکتوباسیلوس سالیواریوس* (*L. salivarius* NABRII59 (MH595987)) جداسازی شده از اردک بومی مازندران به‌طور منفرد و جداگانه، با اثر آنتی‌بیوتیک محرک رشد (*آویلامایسین*) و پروبیوتیک تجاری (*لاکتوفید*) بر عملکرد، شاخصه‌های مربوط به لاشه، فراسنجه‌های خونی و ایمنی جوجه‌های گوشتی مقایسه گردید.

مواد و روش‌ها

یک سویه *لاکتوباسیلوس روتری* (*L. reuteri* ABRIG25 (MF686485)) جداسازی شده از مرغ بومی گیلان و یک سویه *لاکتوباسیلوس سالیواریوس* (*L. salivarius* NABRII59 (MH595987)) جداسازی شده از اردک بومی مازندران به‌طور جداگانه به‌صورت بی هوازی در محیط کشت MRS مایع در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد کشت شدند. سپس کشت‌های حاصله در ۵۰۰۰ دور در دقیقه و به‌مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شدند. سوپرناتانت حاصل از سانتریفوژ خارج و خمیر حاصل از هر یک از سویه‌های لاکتوباسیلوسی به‌صورت جداگانه در فریز درایر خشک شدند. سپس هر یک از جدایه‌ها به‌منظور استفاده در جیره جوجه‌های گوشتی به‌میزان CFU/g $10^9 \times$ ۱/۳۶ در آرد ذرت رقیق شدند (Shokryazdan *et al.*, 2017).

در این آزمایش، ۳۰۰ قطعه جوجه نر یک روزه (*آربراکرز پلاس*) به‌طور تصـــادفی بین پنج تیمار، چهار تکرار و ۱۵ قطعه پرنده در هر تکرار توزیع شـــدند. میانگین وزن اولیه گروه‌های آزمایشـــی ۴۰ گرم بود. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: ۱- جیره پایه به‌عنوان شاهد، ۲- جیره پایه + ۱۰۰ گرم در تن از آنتی‌بیوتیک محرک رشد *آویلامایسین*، ۳- جیره پایه + ۲۰۰ گرم در تن پروبیوتیک تجاری *لاکتوفید*، ۴- جیره پایه + یک گرم در کیلوگرم از پودر باکتری *لاکتوباســیلوس ســالیواریوس* ((*L. salivarius* NABRII59 (MH595987) و ۵- جیره پایه + یک گرم در کیلوگرم از پودر باکتری *لاکتوباســیلوس روتری* ((*L. reuteri* ABRIG25 (MF686485). جیره پـایـه بر اساس ذرت و کنجال سویا (CP=45%) فاقد آنتی‌بیوتیک برای دوره آغازین (۱۰-۱ روزگی)، رشـــد (۲۴-۱۱ روزگی) و پایانی (۴۲-۲۵ روزگی) تنظیم گردید. اجزای خوراک و ترکیب مواد مغذی جیره پایه در جدول ۱ نشان داده شده است. به‌منظور ارزیابی شاخص‌های ایمنی ســرم، خون دفیبرینه گوســفند به‌منظور تهیه محلول تعلیقی (آویزش) قابل تزریق SRBC با ســرم ســاختاری (*فیزیولوژیک*) قابل تزریق، شــستشــو و رقیق شـد. در روزهای ۲۲ و ۳۵ از دوره پرورشــی، به دو جوجه از هر تکرار، ۰/۱ سی‌سی گلبول قرمز گوسفندی از طریق ورید بال تزریق و هفت روز بعد از هر تزریق، مقدار دو سی‌سی خون از ورید بال گرفته شـد. سـپس نمونه‌ها به‌مدت ۱۲ سـاعت در دمای اتاق قرار داده شد تا سرم از لخته خون جدا شود.

جدول ۱- اجزای خوراک و ترکیب موادمغذی جیره در دوره‌های آغازین، رشد و پایانی

Table 1- Diet ingredients and nutrient composition in starter, grower and finisher periods

اجزای خوراک (درصد) Diet ingredients (percent)	دوره‌های پرورش Breeding periods			ترکیب موادمغذی Nutrient composition	دوره‌های پرورش Breeding periods		
	آغازین Starter	رشد Grower	پایانی Finisher		آغازین Starter	رشد Grower	پایانی Finisher
ذرت Corn	53.31	56.16	59.61	انرژی (کیلوکالری/کیلوگرم) ME (Kcal/Kg)	2870	3000	3080
کنجاله سویا (CP=45%) Soybean meal	39.26	35.72	31.90	پروتئین خام (درصد) CP (%)	21.82	20.48	19.06
روغن سویا Soybean oil	2.83	4.16	4.73	کلسیم (درصد) Calcium (%)	1	0.86	0.82
دی کلسیم فسفات Dicalcium phosphate	2	1.78	1.68	فسفر قابل دسترس (درصد) Available P (%)	0.47	0.43	0.40
کربنات کلسیم $CaCO_3$	1.18	0.95	0.93	ترئونین (درصد) Threonine (%)	0.79	0.70	0.63
نمک خوراکی Common salt	0.36	0.29	0.30	آرژنین (درصد) Arginine (%)	1.45	1.27	1.13
مکمل ویتامینی[1] Vitamin premix[1]	0.25	0.25	0.25	لایزین (درصد) Lysine (%)	1.2	1.05	0.93
مکمل معدنی[2] Mineral premix[2]	0.25	0.25	0.25	متیونین + سیستئین (درصد) Methionine + Cysteine (%)	0.89	0.80	0.73
دی ال متیونین D,L-Methionine	0.30	0.24	0.20	فیبر خام (درصد) CF (%)	2.63	2.58	2.54
ال لایزین هیدروکلراید L-Lysine HCl	0.18	0.08	0.04	روغن کل جیره (درصد) Fat (%)	5.05	6.47	7.15
ال ترئونین L-Threonine	0.08	0.03	0.01				

[1] هر کیلوگرم مکمل ویتامینی حاوی: ویتامین A (۵۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی بر گرم)، ۱/۸ گرم؛ ویتامین B_1 (۹۸/۸ ٪)، ۰/۱۸ گرم؛ ویتامین B_6 (۹۸/۵ ٪)، ۰/۳ گرم؛ ویتامین B_{12} (۱ ٪)، ۰/۱۵ گرم؛ ویتامین D_3 (۵۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی بر گرم)، ۰/۴ گرم؛ ویتامین B_9 (۸۰ ٪)، ۰/۱۲۵ گرم؛ ویتامین B_5 (۹۹ ٪)، ۳ گرم؛ ویتامین E (۵۰۰ واحد بین‌المللی بر گرم)، ۳/۶ گرم؛ ویتامین K_3 (۵۰ ٪)، ۰/۴ گرم؛ ویتامین H_2 (۲ ٪)، ۰/۵ گرم.

[2] هر کیلوگرم مکمل معدنی حاوی: منگنز (اکسید منگنز ۶۲ ٪)، ۱۶ گرم؛ آهن (سولفات آهن ۲۰ ٪)، ۲۵ گرم؛ روی (اکسید روی ۷۷ ٪)، ۱۱ گرم؛ مس (سولفات مس ۲۵ ٪)، چهار گرم؛ ید (کلسیم یدات ۶۲ ٪)، ۰/۱۶ گرم؛ سلنیوم (۱ ٪)، دو گرم.

[1] Each kilogram of vitamin premix contains: vitamin A (500000 IU/g), 1.8 g; vitamin B_1 (98.8 %), 0.18 g; vitamin B_6 (98.5 %), 0.3 g; vitamin B_{12} (1 %), 0.15 g; vitamin D_3 (500000 IU/g), 0.4 g; vitamin B_9 (80 %), 0.125 g; vitamin B5 (99 %), 3 g; vitamin E (500 IU/g), 3.6 g; vitamin K_3 (50 %), 0.4 g; vitamin H_2 (2 %), 0.5 g.

[2] Each kilogram of mineral premix contains: Mn (manganese oxide 62 %), 16 g; Fe (iron sulfate 20 %), 25 g; Zn (zinc oxide 77 %), 11 g; Cu (copper sulfate 25 %), 4 g; I (calcium iodate 62 %), 0.16 g; Se (selenium 1 %), 2 g.

ســرم‌های جدا شــده با دور (rpm) ۱۵۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه ســانتریفیوژ شــدند و عیار پادتن ایمنوگلوبین M، ایمنوگلوبین G و ایمنوگلوبولین کل، به‌روش *هماگلوتیناسیون* (HA) اندازه‌گیری شدند (Oie, 2008). همچنین در روز ۲۸ و ۴۰ پرورش، به‌طور تصادفی از دو پرنده در هر تکرار خون‌گیری به‌عمل آمد و عیار پادتن علیه نیوکا سل به‌وسیله آزمایش ممانعت از هماگلوتیناسیون (HI) تعیین گردید (Ghaniei and Mohammadzadeh, 2012). در روز ۴۲ پرورش به‌طور تصادفی از دو پرنده در هر تکرار، به‌منظور ارزیابی خصوصیات بیوشیمیایی خون بعد از هشت ساعت گرسنگی از ورید بال خون‌گیری به‌عمل آمد. جهت جداسازی سرم، نمونه‌ها به‌مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۱۵۰۰ دور در دقیقه قرار گرفته و فراسنجه‌های خونی شامل گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، لیپوپروتئین‌های با چگالی بالا (HDL)، لیپوپروتئین‌های با چگالی کم (LDL) و لیپوپروتئین‌های با چگالی بسیار کم (VLDL) با روش اسپکتروفتومتری و با استفاده از بسته‌های تشخیصی تهیه شده از شرکت پارس‌آزمون اندازه‌گیری شدند (Nazifi, 1997).

در روز ۴۲ پرورش، دو جوجه از هر تکرار با قطع رگ گردن کشتار، و وزن اندام‌های داخلی و اجزای لاشه مانند قلب، کبد، سنگدان، پیش‌معده، طحال، پانکراس، قلب، بورس، تیموس، لاشه، ران، سینه، بال، چربی و نسبت سینه به ران تعیین، و به صورت درصدی از وزن بدن ثبت شدند. افزایش وزن روزانه، مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی برای دوره‌های آغازین (۱۰-۱ روزگی)، رشد (۲۴-۱۱روزگی)، پایانی (۴۲- ۲۵ روزگی) و کل دوره پرورش (۴۲-۱ روزگی) ثبت و بر اساس میزان تلفات هر گروه تصحیح شدند. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۴ (۲۰۱۲) از رویه GLM و بر اساس طرح کاملاً تصادفی آنالیز، و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۰/۰۵ انجام شد. مدل آماری در این تحقیق به‌صورت زیر است:

$$Y_{ij} = \mu + T_j + \varepsilon_{ij}$$

که در این معادله، Y_{ij}: مشاهدات، μ: میانگین مشاهدات، T_i: اثر تیمار و ε_{ij}: اثر خطای تصادفی مربوط به هر مشاهده است.

نتایج و بحث

اثرات مربوط به دو جدایه لاکتوبا سیلوس بومی جدا سازی شده از دستگاه گوارش طیور بومی، آنتی‌بیوتیک محرک رشد، پروبیوتیک تجاری *لاکتوفید* و شاهد بر افزایش وزن روزانه، میزان مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی در جدول ۲ آورده شده است. مشاهده شد که طی دوره‌های پرورش، تفاوتی بین تیمارهای آزمایشی از نظر میزان مصرف خوراک، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک به دست نیامد. مطابق نتایج این مطالعه، جین و همکاران (Jin *et al.*, 1998)، احمد و همکاران (Ahmed *et al.*, 2019) و مانت زوریس و همکاران (Mountzouris *et al.*, 2006)، ضمن افزودن پروبیوتیک‌ها به جیره طیور، در ضریب تبدیل خوراک تفاوتی نسبت به شاهد گزارش نکردند. به‌طور کلی، تأثیر سودمند پروبیوتیک‌ها در جیره بر بازده خوراک را می‌توان به افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی مانند پروتئاز، لیپاز و آمیلاز و همچنین کاهش فعالیت آنزیم اوره‌آز و حفظ باکتری‌های مفید در روده از طریق رقابت با باکتری‌های بیماری‌زا و فعالیت ضدکشنی علیه میکروب‌ها نسبت داد (Kamboh, 2018; Jin *et al.*, 1998). در تقابل، مونتزوریس و همکاران (Mountzouris *et al.*, 2006)، بهبود ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با پروبیوتیک را به‌دلیل افزایش قابلیت هضم مواد مغذی گزارش کردند. بیان شده که استفاده از پروبیوتیک‌ها در جیره طیور موجب بهبود ضریب تبدیل خوراک شده که دلیل احتمالی آن، افزایش باکتری‌های مفید به‌ویژه لاکتوباسیل‌ها در مجرای گوارشی و جلوگیری از توسعه باکتری‌های بیماری‌زا مانند *اشریشیاکلی* از طریق تولید اسیدهای آلی و باکتریوسین و نیز خنثی‌کردن سموم حاصل از آن‌ها می‌باشد (Li *et al.*, 2014). گزارشات متعددی در رابطه با بهبود افزایش وزن در اثر استفاده از پروبیوتیک‌ها در دسترس می‌باشد (Abd-El-Rahman *et al* ., 2012; Hossain *et* al., 2015; Li *et al*., 2014). تأثیر پروبیوتیک ممکن است به‌دلیل رقابت بین باکتری‌های موجود در ترکیبات پروبیوتیک با جمعیت‌های میکروبی دستگاه گوارش باشد. هر چه باکتری‌های پروبیوتیک زمان بیشتری در اختیار داشته باشند، ممکن است در رقابت با جمعیت‌های میکروبی دستگاه گوارش با کارایی بهتری عمل نمایند. از طرف دیگر، با توجه به عدم توسعه کامل جمعیت میکروبی در دستگاه گوارش پرنده در سنین اولیه، ترکیبات پروبیوتیکی می‌توانند به‌شکل مناسب در دستگاه گوارش استقرار یافته، از طریق حذف رقابتی سبب کاهش فعالیت و رشد باکتری‌های مضر شوند. نتایج مطالعات متعدد حاکی است که پروبیوتیک‌ها موجب بهبود عملکرد و سلامت و کاهش نیاز نگهداری پرنده می‌شوند (Habibi *et al*., 2013; Hassan *et al*., 2018)، اگرچه نتایج برخی مطالعات دیگر اشاره به عدم اثرات معنی‌دار پروبیوتیک‌ها روی بهبود عملکرد رشد دارد (Olnood *et al*., 2015). از جمله دلایل تفاوت یافته‌ها می‌توان به تفاوت در نوع پروبیوتیک، مقدار تجویز شده (دوز مصرف)، تعداد و نوع سویه، شرایط مدیریت و محیط (استرس و تنش‌ها)، سن و جنس جوجه و نیز ترکیب جیره (خصوصاً میزان پروتئین آن) اشاره نمود (Chen *et al*., 2017; Chen *et al*., 2022). همچنین هرچه باکتری‌ها زمان بیشتری برای استقرار در لوله گوارشی داشته باشند، در رقابت با ریزسازواره‌های نامطلوب، موفق‌تر عمل می‌کنند (Kannan

et al., 2007). مصـــرف پروبیوتیک‌ها ســـبب افزایش ارتفاع پرزها و خمل‌ها و عمق کریپت شده که ضمن بهبود جذب مواد مغذی (Nii *et al.*, 2020)، در جیره‌های کم پروتئین (خصوصاً از نظر سیستئین و لایزین) نیز کارآمدتر عمل می‌کند (Patterson and Burkholder, 2003). در مطالعه حاضـــر، وزن نســـبی اندام‌های داخلی به‌صـــورت درصـدی از وزن بدن محاسـبه و در جدول ۳ گزارش شـده اسـت. در شـرایط این پژوهش، مشـابه با نتایج مطالعه آواد و همکاران (Awad *et al.*, 2009)، وزن پیش‌معـده بـه‌صـــورت معنی‌داری در گروه پروبیوتیک تجاری، جدایه‌های *لاکتوباســـیلوس* بومی و آنتی‌بیوتیک محرک رشد در مقایسه با شاهد کاهش یافت. در میانگین وزن نسبی سایر اندام‌ها، مانند بسیاری از مطالعات انجام شده تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای پروبیوتیکی و سایر تیمارها مشاهده نگردید (Hossain *et al.*, 2015; Shokryazdan *et al.*, 2017). منطبق با نتایج این گزارش، نتایج آواد و همکاران (Awad *et al.*, 2006)، نشان داد که گنجاندن پروبیوتیک در جیره جوجه‌های گوشتی تأثیری بر روده کور، کبد، طحال، تیموس و بورس نداشت.

جدول ۲- اثرات مصرف باکتری‌های اسید لاکتیکی بومی، آنتی‌بیوتیک محرک رشد و پروبیوتیک تجاری بر صفات تولیدی جوجه‌های گوشتی (گرم/پرنده/روز)

Table 2- Consumption effects of native lactic acid bacteria, growth-promoter antibiotics and commercial probiotics on production traits in broilers (gram/bird/day)

	صفات تولیدی Production traits	جیره‌های آزمایشی Experimental diets						
		شاهد Cont[1]	آنتی‌بیوتیک Anti[1]	پروبیوتیک Plac[1]	سالیواریوس Pls_1[1]	روتری Plr_1[1]	P-value	SEM
دوره آغازین (۱-۱۰ روزگی) Starter (1-10 days)	افزایش وزن (گرم/پرنده/روز) Weight gain (g/bird/day)	17.60	16.86	18.03	18.36	17.23	0.88	1.13
	مصرف خوراک (گرم/پرنده/روز) Feed intake (g/bird/day)	23.22	23.14	23.47	24.14	23.53	0.94	0.92
	ضریب تبدیل خوراک Feed conversion ratio	1.33	1.38	1.30	1.31	1.37	0.53	0.03
دوره رشد (۱۱-۲۴ روزگی) Grower (11-24 days)	افزایش وزن (گرم/پرنده/روز) Weight gain (g/bird/day)	57.20	58.33	59.32	64.48	56.96	0.51	3.27
	مصرف خوراک (گرم/پرنده/روز) Feed intake (g/bird/day)	75.72	81.00	81.01	86.64	79.28	0.15	2.66
	ضریب تبدیل خوراک Feed conversion ratio	1.34	1.39	1.37	1.34	1.39	0.73	0.03
دوره پایانی (۲۵-۴۲ روزگی) Finisher (25-42 days)	افزایش وزن (گرم/پرنده/روز) Weight gain (g/bird/day)	95.76	106.14	105.55	103.19	106.76	0.19	3.05
	مصرف خوراک (گرم/پرنده/روز) Feed intake (g/bird/day)	200.36	193.91	192.56	195.50	205.98	0.43	5.46
	ضریب تبدیل خوراک Feed conversion ratio	2.04	1.83	1.82	1.89	1.93	0.08	0.05
کل دوره پرورش (۴۲ روز) Whole period (42 days)	افزایش وزن (گرم/پرنده/روز) Weight gain (g/bird/day)	61.26	66.51	66.51	67.62	64.38	0.39	2.20
	مصرف خوراک (گرم/پرنده/روز) Feed intake (g/bird/day)	112.70	110.96	109.75	113.75	110.80	0.89	3.14
	ضریب تبدیل خوراک Feed conversion ratio	1.78	1.67	1.65	1.68	1.72	0.08	0.03

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

[1] Cont: گروه شـاهد یا کنترل مصـرف‌کننده فقط جیره پایه؛ Anti: گروه مصـرف‌کننده جیره پایه همراه با ۱۰۰ گرم در تن آنتی‌بیوتیک آویلامایسـین؛ Plac: گروه مصـرف‌کننده جیره پایه همراه با پروبیوتیک تجاری لاکتوفید مطابق توصیه تولیدکننده؛ Pls_1: گروه مصرف‌کننده جیره پایه همراه با یک گرم در کیلوگرم از پودر باکتری *لاکتوباسیلوس سالیواریوس* NABRII59 (MH595987)؛ Plr_1: گروه مصرف‌کننده جیره پایه همراه با یک گرم در کیلوگرم از پودر باکتری *لاکتوباسیلوس روتری* ABRIG25 (MF686485)

Means within same row with different superscripts differ (P<0.05).

[1] Cont: Control group which consumes basic diets only; Anti: Consumer group of basic diet containing 100 grams per ton of avilamycin antibiotic; Plac: Consumer group of basic diet containing commercial probiotic (Lacto-feed) according to the manufacturer's consumption recommendations; Pls_1: Consumer group of basic diet containing 1 g/kg *Lactobacillus salivarius* bacterial powder NABRII59 (MH595987); Plr_1: Consumer group of basic diet containing 1 g/kg *Lactobacillus reuteri* bacterial powder ABRIG25 (MF686485)

جدول ۳– اثرات مصرف باکتری‌های اسید لاکتیکی بومی، آنتی‌بیوتیک محرک رشد و پروبیوتیک تجاری بر درصد وزن نسبی اندام‌های داخلی (گرم وزن اندام بر وزن زنده × ۱۰۰) و اجزای لاشه (گرم وزن اجزای لاشه بر وزن لاشه × ۱۰۰) در جوجه‌های گوشتی

Table 3- Consumption effects of native lactic acid bacteria, growth-promoter antibiotics and commercial probiotics on the percentage of relative weight of internal organs (organ weight/live weight ×100) and carcass components (carcass component weight/carcass weight ×100) in broilers

اجزای لاشه Carcass components	جیره‌های آزمایشی Experimental diets						
	شاهد Cont[1]	آنتی‌بیوتیک Anti[1]	پروبیوتیک Plac[1]	سالیواریوس Pls_1[1]	روتری Plr_1[1]	P-value	SEM
کبد Liver	2.39	2.40	2.56	2.21	2.32	0.32	0.11
سنگدان Gizzard	1.48	1.45	1.42	1.36	1.45	0.67	0.058
پیش‌معده Proventriculus	0.40 [a]	0.32 [b]	0.32 [b]	0.34 [b]	0.33 [b]	0.030	0.018
طحال Spleen	0.11	0.10	0.12	0.13	0.11	0.13	0.008
پانکراس Pancreas	0.24	0.22	0.23	0.23	0.22	0.71	0.01
قلب Heart	0.49	0.42	0.45	0.44	0.46	0.13	0.019
بورس Bursa	0.059	0.050	0.060	0.060	0.070	0.046	0.005
تیموس Thymus	0.38	0.33	0.27	0.34	0.41	0.07	0.032
لاشه Carcass	62.35	63.23	63.76	64.46	64.45	0.32	0.80
ران Thigh	30.37	29.85	30.40	30.31	30.45	0.71	0.41
سینه Breast	38.37	38.82	38.10	39.06	39.42	0.53	0.65
بال Wing	8.37	8.16	8.22	8.57	8.35	0.88	0.15
چربی Fat	1.26	1.46	1.31	1.34	1.56	0.61	0.15
سینه به ران Breast:thigh	1.26	1.30	1.25	1.28	1.29	0.98	0.046

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P<0.05$).

[۱] Cont: گروه شاهد یا کنترل مصرف‌کننده فقط جیره پایه؛ Anti: گروه مصرف‌کننده جیره پایه همراه با ۱۰۰ گرم در تن آنتی‌بیوتیک آویلامایسین؛ Plac: گروه مصرف‌کننده جیره پایه همراه با پروبیوتیک تجاری لاکتوفید مطابق توصیه تولیدکننده؛ Pls_1: گروه مصرف‌کننده جیره پایه همراه با یک گرم در کیلوگرم از پودر باکتری *لاکتوباسیلوس سالیواریوس* NABRII59 (MH595987)؛ Plr_1: گروه مصرف‌کننده جیره پایه همراه با یک گرم در کیلوگرم از پودر باکتری *لاکتوباسیلوس روتری* ABRIG25 (MF686485)

Means within same row with different superscripts differ ($P<0.05$).

[1] Cont: Control group which consumes basic diets only; Anti: Consumer group of basic diet containing 100 grams per ton of avilamycin antibiotic; Plac: Consumer group of basic diet containing commercial probiotic (Lacto-feed) according to the manufacturer's consumption recommendations; Pls_1: Consumer group of basic diet containing 1 g/kg *Lactobacillus salivarius* bacterial powder NABRII59 (MH595987); Plr_1: Consumer group of basic diet containing 1 g/kg *Lactobacillus reuteri* bacterial powder ABRIG25 (MF686485)

داده‌های مربوط به اثرات تیمارهای آزمایشی بر عیار پادتن کل، ایمنوگلوبولین M و ایمنوگلوبولین G علیه SRBC پس از دو مرحله تزریق گلبول‌های قرمز گوسفند (SRBC) در جدول ۴ نشان داده شده است. در این مطالعه، پروبیوتیک تجاری و جدایه‌های لاکتوباسیلوسی بومی به‌صورت معنی‌داری منجر به بهبود ایمنوگلوبولین کل و ایمنوگلوبولین G پس از اولین و دومین تزریق شدند. جدایه

لاکتوباسیلوس سالیواریوس (Pls1) استفاده شده در این مطالعه به‌صورت معنی‌داری منجر به بهبود ایمنوگلوبولین M پس از دومین تزریق گردید. مشابه با نتایج مطالعه حاضر، اساتو و همکاران (Wondmeneh *et al*., 2012) گزارش کردند که ریزسازواره‌های مؤثر پروبیوتیکی منجر به افزایش پاسخ پادتن نسبت به تزریق SRBC می‌شوند. نتایج مطالعات نشان داده‌اند که بسیاری از پروبیوتیک‌های لاکتوباسیلوسی منجر به ظهور اثرات مفیدی برروی شاخصه‌های سامانه ایمنی پرنده می‌شوند (Kabir *et al*., 2004). با توجه به افزایش اختصاصی عیار پادتن علیه SRBC می‌توان احتمال داد که تولید اختصاصی پادتن افزایش یافته که می‌تواند بیان‌گر بهبود وضعیت عمومی ایمنی باشد. جمعیّت میکروبی روده با فراهم‌سازی سدّ طبیعی در برابر باکتری‌های مضر، از رشد عوامل نامطلوب ممانعت نموده و با تولید باکتریوسین‌ها یا سایر مواد ضد میکروبی، باعث ارتقاء عملکرد سامانه ایمنی می‌شوند (Elbaz and El-sheikh, 2020). به‌علاوه، باکتری‌های روده‌ای برای توسعه بافت لنفاوی دستگاه گوارش ضروری بوده و جهت فعالیت‌های ایمنی مخاط روده و توسعه پادتن‌های طبیعی اهمیت دارند (Rhee *et al*., 2005). پاسخ ثانویه پادتن علیه SRBC تزریق شده با قدرت بیشتری همراه است، زیرا با افزایش سن جوجه‌ها، سامانه ایمنی آن‌ها تکامل بیشتری می‌یابد و یاخته‌های خاطره تولید شده در پاسخ ایمنی، موجب تشدید تولید پادتن در پاسخ ثانویه می‌شوند. بهبود ایمنی تحت تأثیر پروبیوتیک‌ها از طریق افزایش پادتن‌های عمومی و اینترفرون‌ها، پادتن‌های موضعی در سطوح مخاطی بافت دیواره روده و نیز افزایش فعالیت های بیگانه‌خواری ایجاد می‌شود (Lutful Kabir, 2009). تفاوت تغییرات پادتن علیه گلبول قرمز گوسفندی در آزمایش‌های مختلف ممکن است تحت تأثیر روش و محل تزریق پادگن، جنس حیوان، شرایط تغذیه‌ای، حرارت محیط، سن و ظرفیت ژنتیکی جوجه‌ها و همچنین مقدار تجویز شده (دوز مصرف) پروبیوتیک‌ها و نوع و تعداد سویه‌های باکتریایی آن‌ها باشد (Tayeri *et al*., 2018).

نتایج حاصل از اثرات تیمارهای آزمایشی بر عیار پادتن علیه واکسن نیوکاسل در روزهای ۲۸ و ۴۰ دوره پرورش در جدول ۵ نشان داده شده است. مقایسه داده‌های مربوط به میانگین عیار پادتن در این جدول حاکی از عدم تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی نسبت به شاهد بود. گزارش شده است که بهبود پاسخ ایمنی در گروه‌های آزمایشی حاوی پروبیوتیک علیه نیوکاسل می‌تواند به‌دلایل مختلف از جمله وجود ترکیباتی نظیر باکتریوسین‌ها باشد. پروبیوتیک‌ها از طریق تولید ترکیبات ضد باکتریایی مانند باکتریوسین‌ها و دفنسین‌ها، از عمل عوامل بیماری‌زا ممانعت کرده و سامانه ایمنی را تحریک می‌کنند (Rowghani *et al*., 2007). به‌علاوه، پروبیوتیک ها قادر به آزاد کردن ویتامین‌های گروه B هستند که پاسخ ایمنی را تحریک کرده و با تولید آنزیم‌های هضمی، تولید اسیدهای چرب فرار را افزایش می‌دهند (Lehman, 2014). نتایج مطالعات محققین نشان داد که جیره‌های حاوی پروبیوتیک‌ها، از طریق تعادل جمعیّت باکتری‌هایی که پاسخ ایمنی اکتسابی به‌وسیله لنفوسیت‌های T و B را القا می‌کنند، پاسخ ایمنی را ارتقا می‌دهند. ریز سازواره‌های مفید تکثیر یافته در اثر مصرف پروبیوتیک‌ها، باعث حذف رقابتی و تخریب ریزسازواره‌های مهاجم شده و یا از طریق جذب پادگن‌های آزاد شده از باکتری‌های غیر زنده بیماری‌زا، موجب تحریک سامانه ایمنی می‌شوند (Abd El-Hack *et al*., 2020). در عین‌حال، با افزایش تعداد لنفوسیت‌ها در یاخته‌های دیواره روده و تحریک تولید پادتن (ایمنوگلوبولین T و B)، افزایش فعالیت بیگانه‌خواری گلبول سفید، تولید ترکیبات ضد باکتریایی و افزایش ترشح گاما اینترفرون‌ها، موجب تحریک سامانه ایمنی می شوند (Kumar *et al*., 2018). بررسی پاسخ ایمنی بعد از واکسیناسیون متعاقب مصرف پروبیوتیک‌ها، ابزاری مناسب برای بررسی اثر پروبیوتیک‌ها بر تحریک سامانه ایمنی انسان و حیوان می‌باشد (Dalloul *et al*., 2005).

نتایج تأثیر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی در جدول شماره ۶ ارائه شده است. براساس نتایج به‌دست آمده در تحقیق حاضر، بین تیمارهای آزمایشی با گروه شاهد از نظر غلظت گلوکز و کلسترول سرم، اختلاف معنی‌داری به‌دست نیامد. در نتایج به‌دست آمده مربوط به مقدار تری‌گلیسرید و لیپوپروتئین‌های با چگالی بسیار کم (VLDL) در تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نبوده، امّا کم‌ترین مقدار تری‌گلیسرید و VLDL در تیمارهای جدایه *لاکتوباسیلوس سالواریوس* (Pls1) و پروبیوتیک تجاری *لاکتوفید* ثبت گردید. در داده‌های به‌دست آمده از لیپوپروتئین‌های با چگالی بالا (HDL) در تیمارهای جدایه *لاکتوباسیلوس سالواریوس* (Pls1)، جدایه *لاکتوباسیلوس روتری* (Plr1) و پروبیوتیک تجاری *لاکتوفید* تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. غلظت HDL در تیمار آنتی‌بیوتیک *آویلامایسین* نسبت به گروه شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت و بیش‌ترین مقدار HDL در تیمار جدایه‌ی *لاکتوباسیلوس سالواریوس* (Pls1) مشاهده شد. غلظت لیپوپروتئین‌های با چگالی کم (LDL) سرم خون در تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان نداد.

جدول ٤- اثرات مصرف باکتری‌های اسید لاکتیکی بومی، آنتی‌بیوتیک محرک رشد و پروبیوتیک تجاری بر ایمنوگلوبولین‌های سرم جوجه‌های گوشتی پس از دو مرحله تزریق SRBC (گلبول قرمز خون گوسفند)

Table 4- Consumption effects of native lactic acid bacteria, growth-promoter antibiotics and commercial probiotics on broiler serum immunoglobulins after two stages of SRBC injection (sheep red blood cells)

ایمنوگلوبولین Immunoglobulin	جیره‌های آزمایشی Experimental diets						
	شاهد Cont[1]	آنتی‌بیوتیک Anti[1]	پروبیوتیک Plac[1]	سالیواریوس Pls_1[1]	روتری Plr_1[1]	P-value	SEM
ایمنوگلوبولینM (IU/ml) IgM (IU/ml)	1.25 ^{a}	2.12 ^{a}	1.87 ^{ab}	0.002 ^{ab}	1.62 ^{ab}	0.19	0.27
ایمنوگلوبولینG (IU/ml) IgG (IU/ml)	4.25 ^{b}	4.12 ^{b}	6.12 ^{a}	6.87 ^{a}	6.12 ^{a}	0.0001	0.35
کل (IU/ml) Total (IU/ml)	5.50 ^{b}	6.25 ^{b}	8.00 ^{a}	8.87 ^{a}	7.75 ^{a}	0.0001	0.38
ایمنوگلوبولینM (IU/ml) IgM (IU/ml)	1.75 ^{b}	2.25 ^{b}	2.00 ^{b}	3.12 ^{a}	2.00 ^{b}	0.008	0.26
ایمنوگلوبولینG (IU/ml) IgG (IU/ml)	4.87 ^{b}	4.75 ^{b}	6.25 ^{a}	6.00 ^{a}	6.37 ^{a}	0.002	0.34
کل (IU/ml) Total (IU/ml)	6.62 ^{b}	7.00 ^{b}	8.25 ^{a}	9.12 ^{a}	8.37 ^{a}	0.0001	0.35

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<0.05).

[۱] Cont: گروه شاهد یا کنترل مصرف‌کننده فقط جیره پایه؛ Anti: گروه مصرف‌کننده جیره پایه همراه با ۱۰۰ گرم در تن آنتی‌بیوتیک آویلامایسین؛ Plac: گروه مصرف‌کننده جیره پایه همراه با پروبیوتیک تجاری لاکتوفید مطابق توصیه تولیدکننده؛ Pls_1: گروه مصرف‌کننده جیره پایه همراه با یک گرم در کیلوگرم از پودر باکتری *لاکتوباسیلوس سالیواریوس* NABRII59 (MH595987)؛ Plr_1: گروه مصرف‌کننده جیره پایه همراه با یک گرم در کیلوگرم از پودر باکتری *لاکتوباسیلوس روتری* ABRIG25 (MF686485)

Means within same row with different superscripts differ (P<0.05).

[1] Cont: Control group which consumes basic diets only; Anti: Consumer group of basic diet containing 100 grams per ton of avilamycin antibiotic; Plac: Consumer group of basic diet containing commercial probiotic (Lacto-feed) according to the manufacturer's consumption recommendations; Pls_1: Consumer group of basic diet containing 1 g/kg *Lactobacillus salivarius* bacterial powder NABRII59 (MH595987); Plr_1: Consumer group of basic diet containing 1 g/kg *Lactobacillus reuteri* bacterial powder ABRIG25 (MF686485)

جدول ۵- اثرات مصرف باکتری‌های اسید لاکتیکی بومی، آنتی‌بیوتیک محرک رشد و پروبیوتیک تجاری بر عیار پادتن علیه بیماری نیوکاسل در روز ۲۲ و ۳۵

Table 5- Consumption effects of native lactic acid bacteria, growth-promoter antibiotics and commercial probiotics on antibody titer against Newcastle disease at day 22 and 35

عیار پادتن (پادتن در میلی‌لیتر خون) Antibody titer (antibody/ml blood)	جیره‌های آزمایشی Experimental diets						
	شاهد Cont[1]	آنتی‌بیوتیک Anti[1]	پروبیوتیک Plac[1]	سالیواریوس Pls_1[1]	روتری Plr_1[1]	P-value	SEM
عیار پادتن نیوکاسل در روز۲۲ ND1 (at day 22)	4.25	4.25	4.50	5.00	4.00	0.45	0.39
عیار پادتن نیوکاسل در روز۳۵ ND2 (at day 35)	4.12	4.12	4.75	5.12	4.50	0.61	0.52

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<0.05).

[۱] Cont: گروه شاهد یا کنترل مصرف‌کننده فقط جیره پایه؛ Anti: گروه مصرف‌کننده جیره پایه همراه با ۱۰۰ گرم در تن آنتی‌بیوتیک آویلامایسین؛ Plac: گروه مصرف‌کننده جیره پایه همراه با پروبیوتیک تجاری لاکتوفید مطابق توصیه تولیدکننده؛ Pls_1: گروه مصرف‌کننده جیره پایه همراه با یک گرم در کیلوگرم از پودر باکتری *لاکتوباسیلوس سالیواریوس* NABRII59 (MH595987)؛ Plr_1: گروه مصرف‌کننده جیره پایه همراه با یک گرم در کیلوگرم از پودر باکتری *لاکتوباسیلوس روتری* ABRIG25 (MF686485)

Means within same row with different superscripts differ (P<0.05).

[1] Cont: Control group which consumes basic diets only; Anti: Consumer group of basic diet containing 100 grams per ton of avilamycin antibiotic; Plac: Consumer group of basic diet containing commercial probiotic (Lacto-feed) according to the manufacturer's consumption recommendations; Pls_1: Consumer group of basic diet containing 1 g/kg *Lactobacillus salivarius* bacterial powder NABRII59 (MH595987); Plr_1: Consumer group of basic diet containing 1 g/kg *Lactobacillus reuteri* bacterial powder ABRIG25 (MF686485)

کلسترول یکی از مولکول‌های زیستی از دسته چربی‌ها است که نقش مهمی در بیماری‌های قلبی و عروقی دارد. کلســترول باعث ضخیم شدن شریان‌ها و کاهش انعطاف‌پذیری و سخت‌تر شدن عروق و نیز کاهش سرعت و یا گاهی انسداد جریان خون به قلب و سایر اندام‌ها می شود. سازوکارهای تأثیرگذار بر روی عارضه کلسترول بالا شامل میزان غلظت تجویز شده تأثیرگذار، بسامد اثربخشی، طول مدت درمان و قدرت اثربخشــی می‌باشــند، ولی به‌طور کلی، ســازوکارهای مختلفی برای آن پیشنهاد شده که از جمله می‌توان به اثر پروبیوتیک‌ها بر مهار فعالیت آنزیمی هیدروکسی متیل گلوتاریل کوآنزیم آ (HMG-CoA)، غیرمزدوج کردن نمک‌های صــفراوی و افزایش دفع آن ها، کاهش ســاخت و جذب کلســترول به‌واســطه عمل پروبیوتیک‌های لاکتوباسیلی (Pereira and Gibson, 2002)، متصل شدن کلسترول به دیواره ســلولی پروبیوتیک‌ها (Liong and Shah, 2006)، ادغام شــدن کلســترول درون غشــای ســلولی پروبیوتیک‌ها (Lye *et al*., 2010) و تبدیل کلســترول به کوپروســتانول اشــاره نمود. تومارو دوچســنیو و همکــاران (Tomaro-Duchesneau *et al*., 2014)، گزارش کردند که یکی از ســویه‌های *لاکتوباســیلوس روتری* دارای توانایی کاهش کلســترول می‌باشــد. گزارشــات تحقیق طاهرپور و همکاران (Taherpour *et al*., 2009)، بیانگر آن اســت که افزودن پروبیوتیــک در جیره جوجــه‌هــای گوشــتی، غلظــت کلســترول و لیپوپروتئین‌های با چگالی کم (LDL) ســرم را کاهش داد. در این گزارش غلظت تری‌گلیســریدها، لیپوپروتئین‌های با چگالی بســیار کم (VLDL) و همچنین لیپوپروتئین های با چگالی بالا (HDL) تغییر معنی‌داری نشان نداد. یالسینکایا و همکاران (Yalcinkaya *et al*., 2008) نیز گزارش نمودنــد کــه افزودن مکمــل پروبیوتیــک زیست‌توده در جیره طیور موجب کاهش کلسترول و تری‌گلیسرید سرم خون گردید.

جدول ٦- اثرات مصرف باکتری‌های اسید لاکتیکی بومی، آنتی‌بیوتیک محرک رشد و پروبیوتیک تجاری بر فراسنجه‌های خونی جوجه گوشتی

Table 6- Consumption effects of native lactic acid bacteria, growth-promoter antibiotics and commercial probiotics on blood parameters in broiler

فراسنجه‌های خونی (میلی‌گرم/دسی‌لیتر) Blood parameters	جیره‌های آزمایشی Experimental diets						
	شاهد Cont[1]	آنتی‌بیوتیک Anti[1]	پروبیوتیک Plac[1]	سالیواریوس Pls1[1]	روتری Plr1[1]	P-value	SEM
گلوکز Glucose (mg/dl)	126.06	144.2	146.6	107.0	129.5	0.19	12.67
کلسترول Cholesterol (mg/dl)	157.86	133.30	141.88	145.64	144.94	0.30	8.07
تری‌گلیسرید Triglyceride (mg/dl)	58.43	58.77	57.85	57.29	60.74	0.81	2.12
لیپوپروتئین با چگالی بسیار کم VLDL (mg/dl)	11.68	11.75	11.57	11.45	12.15	0.81	0.42
لیپوپروتئین با چگالی زیاد HDL (mg/dl)	72.84 [a]	52.87 [b]	59.07 [ab]	69.52 [a]	57.93 [ab]	0.058	5.12
لیپوپروتئین با چگالی کم LDL (mg/dl)	73.21	68.67	71.23	62.50	72.65	0.94	9.17

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<0.05).

[1] Cont: گروه شـاهد یا کنترل مصـرف‌کننده فقط جیره پایه؛ Anti: گروه مصـرف‌کننده جیره پایه همراه با ۱۰۰ گرم در تن آنتی‌بیوتیک آویلامایسـین؛ Plac: گروه مصرف‌کننده جیره پایه همراه با پروبیوتیک تجاری لاکتوفید مطابق توصیه تولیدکننده؛ Pls1: گروه مصرف‌کننده جیره پایه همراه با یک گرم در کیلوگرم از پودر باکتری *لاکتوباسـیلوس سـالیواریوس* NABRII59 (MH595987)؛ Plr1: گروه مصـرف‌کننده جیره پایه همراه با یک گرم در کیلوگرم از پودر باکتری *لاکتوباسـیلوس روتری* ABRIG25 (MF686485)

Means within same row with different superscripts differ (P<0.05).

[1] Cont: Control group which consumes basic diets only; Anti: Consumer group of basic diet containing 100 grams per ton of avilamycin antibiotic; Plac: Consumer group of basic diet containing commercial probiotic (Lacto-feed) according to the manufacturer's consumption recommendations; Pls1: Consumer group of basic diet containing 1 g/kg *Lactobacillus salivarius* bacterial powder NABRII59 (MH595987); Plr1: Consumer group of basic diet containing 1 g/kg *Lactobacillus reuteri* bacterial powder ABRIG25 (MF686485)

نتیجه‌گیری کلی

بر مبنای نتایج به‌دست آمده در این تحقیق، غنی‌سازی جیره جوجه‌های گوشتی با جدایه‌های پروبیوتیک اسید لاکتیکی بومی منجر به بروز اثرات مفید و مطلوب و مشابه با پروبیوتیک تجاری (*لاکتوفید*) و آنتی‌بیوتیک محرک رشد (*آویلامایسین*) بر عملکرد، فرا سنجه‌های بیوشیمیایی خون و بهبود شاخص‌های پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی از طریق افزایش سطح ایمنوگلوبولین‌های سرم می‌گردد و بنابراین، جدا یه های لاکتوباسیلوسی بومی مورد مطالعه در این تحقیق، نمایندگان مناسبی جهت کاربرد در ترکیب مکمل‌های پروبیوتیکی مورد استفاده در تغذیه طیور هستند. همچنین تفاوت‌های مشاهده شده در نتایج دیگر مطالعات مختلف در این زمینه، می‌تواند به‌دلیل تفاوت در سویه باکتری، غلظت، روش مصرف باکتری، مدت زمان مصرف و شرایط مدیریت و نگهداری جوجه‌ها (مثل سن، جنس و تنش‌های محیطی و غیره) باشد.

سپاسگزاری

از مدیران و کارشناسان پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران (ABRII)، منطقه شمال کشور (گیلان- رشت)، و آقای مهندس محمدی مدیر عامل محترم شرکت رامسر طیور بابت تمامی زحمات و حمایت‌های مالی، تامین اقلام مورد نیاز پژوهشی و فنی این پژوهش صمیمانه قدردانی و تشکر می‌نماییم.

References

1. Abd El- Hack, M. E., El- Saadony, M. T., Shafi, M. E., Qattan, S. Y., Batiha, G. E., Khafaga, A. F., and Alagawany, M. (2020). Probiotics in poultry feed: A comprehensive review. *Journal of Aanimal Physiology and Animal Nutrition*, *104*(6), 1835-1850. https://doi.org/10.1111/jpn.13454 .
2. Abd-El-Rahman, A. H., Kamel, H. H., Ahmed, W. M., Mogoda, O. S., and Mohamed, A. H. (2012). Effect of Bactocell and revitilyte-plus as probiotic food supplements on tm the growth performance, hematological, biochemical parameters and humoral immune response of Broiler Chickens. *World Applied Sciences Journal*, *18*(3),305-316. doi: 10.5829/idosi.wasj.2012.18.03.63247 .
3. Ahmed, E., Abdelrahman, M., and Gahreeb, K. (2019). Effect of probiotic on growth performance, carcass traits, and clinical health parameters of broilers reared under heat stress in upper Egypt. *SVU-International Journal of Veterinary Sciences*, *2*(2), 27-44. https://doi.org/10.21608/svu.2019.11221.1012 .
4. Ashayerizadeh, A., Dabiri, N., Mirzadeh, K. H., and Ghorbani, M. R. (2011). Effects of dietary inclusion of several biological feed additives on growth response of broiler chickens. *Journal of Cell and Animal Biology*, *5*,61-6.
5. Awad, W. A., Böhm, J., Razzazi-Fazeli, E., Ghareeb, K., and Zentek, J. (2006). Effect of addition of a probiotic microorganism to broiler diets contaminated with deoxynivalenol on performance and histological alterations of intestinal villi of broiler chickens. *Poultry Science*, *85*(6), 974-979. https://doi.org/10.1093/ps/85.6.974 .
6. Awad, W. A., Ghareeb, K., Abdel-Raheem, S., and Böhm, J. (2009). Effects of dietary inclusion of probiotic and synbiotic on growth performance, organ weights, and intestinal histomorphology of broiler chickens. *Poultry Science*, *88*(1), 49-56. https://doi.org/10.3382/ps.2008-00244 .
7. Chen, F., Zhu, L., and Qiu, H. (2017). Isolation and probiotic potential of Lactobacillus salivarius and Pediococcus pentosaceus in specific pathogen free chickens. *Brazilian Journal of Poultry Science*, *19*, 325-332. doi:10.1590/1806-9061-2016-0413 .
8. Chen, X., Ishfaq, M., and Wang, J. (2022). Effects of Lactobacillus salivarius supplementation on the growth performance, liver function, meat quality, immune responses and Salmonella Pullorum infection resistance of broilers challenged with Aflatoxin B1. *Poultry Science*, *101*(3), 101651. https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101651
9. Dalloul, R. A., Lillehoj, H. S., Tamim, N. M., Shellem, T. A., and Doerr, J. A. (2005). Induction of local protective immunity to Eimeria acervulina by a Lactobacillus-based probiotic. *Comparative Iimmunology, Microbiology and Infectious Diseases*, *28*(5-6), 351-361. doi: 10.1016/j.cimid.2005.09.001 .
10. FDA. 2010. Generally recognized as safe (GRAS) notifications. Available at http://www.fda.gov/AnimalVeterinary/Products/AnimalFoodFeeds/GenerallyRecognizedasSafeGRASNotifications/default.htm. First accessed on 22 April 2016.
11. Fuller, R. (1989). Probiotics in man and animals. *The Journal of Applied Bacteriology*, *66*(5), 365-378. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1989.tb05105.x .
12. Fuller, R. (2001). The chicken gut microflora and probiotic supplements. *The Journal of Poultry Science*, *38*(3), 189-196. https://doi.org/10.2141/jpsa.38.189 .
13. Ghaniei, A., and Mohammadzadeh, N. (2012). Detection of Newcastle disease virus antibodies in serum of broiler chickens of Iran. *Journal of Animal and Poultry Sciences*, *1*(1), 24-28.
14. Habibi, S., Khojasteh, S., and Jafari, M. (2013). The effect of Bactocell and Protexin probiotics on performance and carcass characteristics of broiler chickens. *Journal of Novel Applied Sciences*, *2*(11), 565-570.
15. Hassan, H. M., Samy, A., Youssef, A. W., and Mohamed, M. A. (2018). Research Article Using Different Feed

Additives as Alternative to Antibiotic Growth promoter to improve growth performance and carcass traits of broilers. *International Journal of Poultry Science*, *17*, 255-261. https://doi.org/10.3923/ijps.2018.255.261 .

16. Hossain, M. M., Begum, M., and Kim, I. H. (2015). Effect of Bacillus subtilis, Clostridium butyricum and Lactobacillus acidophilus endospores on growth performance, nutrient digestibility, meat quality, relative organ weight, microbial shedding and excreta noxious gas emission in broilers. *Veterinarni Medicina*, *60*(2), 77-86. https://doi.org/10.17221/7981-VETMED.
17. Jin, L. Z., Ho, Y. W., Abdullah, N., and Jalaludin, S. (1998). Growth performance, intestinal microbial populations, and serum cholesterol of broilers fed diets containing Lactobacillus cultures. *Poultry Science*, *77*(9), 1259-1265. https://doi.org/10.1093/ps/77.9.1259.
18. Kabir, S. L., Rahman, M. M., Rahman, M. B., Rahman, M. M., and Ahmed, S. U. (2004). The dynamics of probiotics on growth performance and immune response in broilers. *International Journal of Poultry Science*, *3*(5), 361-364.
19. Kalavathy, R., Abdullah, N., Jalaludin, S., and Ho, Y. W. (2003). Effects of Lactobacillus cultures on growth performance, abdominal fat deposition, serum lipids and weight of organs of broiler chickens. *British Poultry Science*, *44*(1), 139-144. https://doi.org/10.1080/0007166031000085445 .
20. Kamboh, A. A. (Ed.). (2018). Synergetic effects of multispecies probiotic supplementation on certain blood parameters and serum biochemical profile of broiler chickens. *Journal of Animal Health and Production*, *6*(1), 27-34. http://dx.doi.org/10.17582/journal.jahp/2018/6.1.27.34 .
21. Kannan, D., Viswanathan, K., and Mohan, B. (2007). The effect of feeding virginiamycin and lactobacillus sporogenes on broiler production performance characters. *Journal of Veterinary & Animal Science*, *3*(2), 1-106.
22. Karimi Torshizi, M. A., Moghaddam, A. R., Rahimi, S. H., and Mojgani, N. (2010). Assessing the effect of administering probiotics in water or as a feed supplement on broiler performance and immune response. *British poultry science*, *51*(2), 178-184. https://doi.org/10.1080/00071661003753756 .
23. Kizerwetter-Swida, M., and Binek, M. (2009). Protective effect of potentially probiotic Lactobacillus strain on infection with pathogenic bacteria in chickens. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, *12*, 15-20.
24. Kumar, M. V., Patil, V. M., Kiran, M., and Tendulkar, S. M. (2018). Effect of Dietary Supplementation of Probiotics (Addon Poultry Max) on Biochemical and Immune Parameters in Commercial Broiler Chicken. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, *7*(10), 1537-1542. https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.710.171 .
25. Lehman, D. C. (2014). Biochemical identification of gram-negative bacteria. *Textbook of Diagnostic Microbiology-E-Book*, *182*.
26. Li, Y. B., Xu, Q. Q., Yang, C. J., Yang, X., Lv, L., Yin, C. H., and Yan, H. (2014). Effects of probiotics on the growth performance and intestinal micro flora of broiler chickens. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, *27*.
27. Lillehoj, H., Liu, Y., Calsamiglia, S., Fernandez-Miyakawa, M. E., Chi, F., Cravens, R. L., and Gay, C. G. (2018). Phytochemicals as antibiotic alternatives to promote growth and enhance host health. *Veterinary Research*, *49*(1), 1-18. https://doi.org/10.1186/s13567-019-0706-3 .
28. Liong, M. T., and Shah, N. P. (2006). Effects of a Lactobacillus casei synbiotic on serum lipoprotein, intestinal microflora, and organic acids in rats. *Journal of Dairy Science*, *89*(5), 1390-1399. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72207-X .
29. Lutful Kabir, S. M. (2009). The role of probiotics in the poultry industry. *International Journal of Molecular Sciences*, *10*(8), 3531-3546. https://doi.org/10.3390/ijms10083531 .
30. Lye, H. S., Rusul, G., and Liong, M. T. (2010). Removal of cholesterol by lactobacilli via incorporation and conversion to coprostanol. *Journal of dairy science*, *93*(4), 1383-1392. https://doi.org/10.3168/jds.2009-2574 .
31. Elbaz, A., and El-sheikh, S. (2020). Effect of dietary probiotic, antibiotic or combination on broiler performance, cecum microbial population and ileal development. *Mansoura Veterinary Medical Journal*, *21*(3), 74-79. https://doi.org/10.21608/mvmj.2020.21.313 .
32. Mountzouris, K., Tsirtsikos, P., Kalamara, E., and Fegeros, K. (2006). Evaluation of the effect of a new probiotic product on broiler performance and cecal microflora composition and metabolic activities. Proc International Poultry Science Forum. Atlanta, Georgia.
33. Mountzouris, K. C., Tsitrsikos, P., Palamidi, I., Arvaniti, A., Mohnl, M., Schatzmayr, G., and Fegeros, K. (2010). Effects of probiotic inclusion levels in broiler nutrition on growth performance, nutrient digestibility, plasma immunoglobulins, and cecal microflora composition. *Poultry Science*, *89*(1), 58-67. https://doi.org/10.3382/ps.2009-00308 .
34. Mu, Q., Tavella, V. J., and Luo, X. M. (2018). Role of Lactobacillus reuteri in human health and diseases. *Frontiers in Microbiology*, *9*, 757. https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00757 .
35. Nakphaichit, M., Thanomwongwattana, S., Phraephaisarn, C., Sakamoto, N., Keawsompong, S., Nakayama, J., and Nitisinprasert, S. (2011). The effect of including Lactobacillus reuteri KUB-AC5 during post-hatch feeding on the growth and ileum microbiota of broiler chickens. *Poultry Science*, *90*(12), 2753-2765.

https://doi.org/10.3382/ps.2011-01637 .
36. Nazifi, S. (1997). Hematology and clinical biochemistry of birds. *Shiraz University Publication, Shiraz, Iran*.
37. Ohimain, E. I., and Ofongo, R. T. (2012). The effect of probiotic and prebiotic feed supplementation on chicken health and gut microflora: a review. *International Journal of Animal and Veterinary Advances*, *4*(2), 135-143.
38. Nii, T., Jirapat, J., Isobe, N., and Yoshimura, Y. (2020). Effects of oral administration of Lactobacillus reuteri on mucosal barrier function in the digestive tract of broiler chicks. *The journal of Poultry Science*, *57*(1), 67-76. https://doi.org/10.2141/jpsa.0190035 .
39. OIE, M. 2008. Chapter 2. 3. 14. Newcastle disease, in: OIE terrestrial manual: manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animal. World Organistion for Animal Health. Paris. France, pp. 598.
40. Olnood, C. G., Beski, S. S., Choct, M., and Iji, P. A. (2015). Novel probiotics: Their effects on growth performance, gut development, microbial community and activity of broiler chickens. *Animal Nutrition*, *1*(3), 184-191. https://doi.org/10.1016/j.aninu.2015.07.003 .
41. Patterson, J. A., and Burkholder, K. M. (2003). Application of prebiotics and probiotics in poultry production. *Poultry Science*, *82*(4), 627-631. https://doi.org/10.1093/ps/82.4.627 .
42. Pereira, D. I., and Gibson, G. R. (2002). Cholesterol assimilation by lactic acid bacteria and bifidobacteria isolated from the human gut. *Applied and Environmental Microbiology*, *68*(9), 4689-4693. https://doi.org/10.1128/AEM.68.9.4689-4693.2002 .
43. Rhee, K. J., Jasper, P. J., Sethupathi, P., Shanmugam, M., Lanning, D., and Knight, K. L. (2005). Positive selection of the peripheral B cell repertoire in gut-associated lymphoid tissues. *The Journal of Experimental Medicine*, *201*(1), 55-62. https://doi.org/10.1084/jem.20041849 .
44. Ritzi, M. M., Abdelrahman, W., Mohnl, M., and Dalloul, R. A. (2014). Effects of probiotics and application methods on performance and response of broiler chickens to an Eimeria challenge. *Poultry Science*, *93*(11), 2772-2778. https://doi.org/10.3382/ps.2014-04207 .
45. Rowghani, E., Arab, M., and Akbarian, A. (2007). Effects of a probiotic and other feed additives on performance and immune response of broiler chicks. *International Journal of Poultry Science*, *6*(4), 261-265.
46. Shokryazdan, P., Faseleh Jahromi, M., Liang, J. B., Ramasamy, K., Sieo, C. C., and Ho, Y. W. (2017). Effects of a Lactobacillus salivarius mixture on performance, intestinal health and serum lipids of broiler chickens. *PloS one*, *12*(5), e0175959. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175959 .
47. Stanton, T. B. (2013). A call for antibiotic alternatives research. *Trends in Microbiology*, *21*(3), 111-113. https://doi.org/10.1016/j.tim.2012.11.002 .
48. Taherpour, K., Moravej, H., Shivazad, M., Adibmoradi, M., and Yakhchali, B. (2009). Effects of dietary probiotic, prebiotic and butyric acid glycerides on performance and serum composition in broiler chickens. *African Journal of Biotechnology*, *8*(10).
49. Tayeri, V., Seidavi, A., Asadpour, L., and Phillips, C. J. (2018). A comparison of the effects of antibiotics, probiotics, synbiotics and prebiotics on the performance and carcass characteristics of broilers. *Veterinary Research communications*, *42*, 195-207. https://doi.org/10.1007/s11259-018-9724-2 .
50. Timmerman, H. M., Veldman, A., Van den Elsen, E., Rombouts, F. M., and Beynen, A. C. (2006). Mortality and growth performance of broilers given drinking water supplemented with chicken-specific probiotics. *Poultry Science*, *85*(8), 1383-1388. https://doi.org/10.1093/ps/85.8.1383 .
51. Tomaro-Duchesneau, C., Jones, M. L., Shah, D., Jain, P., Saha, S., and Prakash, S. (2014). Cholesterol assimilation by Lactobacillus probiotic bacteria: an in vitro investigation. *BioMed Research International*, *2014*. https://doi.org/10.1155/2014/380316 .
52. Wondmeneh, E., Getachew, T., and Tadelle, D. (2012). Immunomodulatory effect of effective microorganisms (EM®) in chickens. *Research Journal of Immunology*, *5*(1), 17-23.
53. Yalcinkaya, I., Guengoer, T., Başalan, M., and Erdem, E. (2008). Mannan oligosaccharides (MOS) from Saccharomyces cerevisiae in broilers: Effects on performance and blood biochemistry. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, *32*(1), 43-48.